

• 论 著 •

弥漫大 B 细胞淋巴瘤组织中 Bcl-2、NF- κ B、C-myc 蛋白表达及临床意义

李清平, 刘 洁, 黎 艳, 肖 波[△]

(湖北省荆门市第二人民医院病理科 448000)

摘要:目的 探讨弥漫大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)组织中 Bcl-2、核因子 κ B (NF- κ B)、C-myc 蛋白表达及其临床意义。方法 选取 67 例 DLBCL 患者淋巴瘤组织作为观察组,选取同期 21 例淋巴结反应性增生(RH)患者淋巴结组织作为对照组,采用免疫组织化学(S-P)方法检测组织中 Bcl-2、NF- κ B、C-myc 蛋白表达水平,分析三者与 DLBCL 临床病理特征之间的关系。结果 Bcl-2、NF- κ B、C-myc 蛋白在 DLBCL 组织中的阳性表达率分别为 58.21%、62.69%、77.61%,在 RH 组织中的阳性表达率分别为 0.00%、19.05%、23.81%,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Bcl-2 蛋白表达与 DLBCL 患者年龄、性别、发病部位、血清乳酸脱氢酶(LDH)水平及结外部位等无显著相关性($P > 0.05$),与患者临床分期、IPI 分级显著相关($P < 0.05$);NF- κ B 蛋白表达与 DLBCL 患者年龄、性别无显著相关性($P > 0.05$),与患者发病部位、临床分期、IPI 分级以及血清 LDH 水平显著相关($P < 0.05$);C-myc 蛋白表达与 DLBCL 患者年龄、性别、发病部位、血清 LDH 水平以及结外部位等无显著相关性($P > 0.05$),与患者临床分期、IPI 分级显著相关($P < 0.05$)。Bcl-2 与 NF- κ B 在 DLBCL 组织中表达呈较强正相关($r = 0.671, P < 0.05$),而与 C-myc 无相关性($P > 0.05$),NF- κ B 与 C-myc 在 DLBCL 组织中表达呈较弱正相关($r = 0.293, P < 0.05$)。结论 Bcl-2、NF- κ B、C-myc 表达与 DLBCL 临床分期、IPI 分级密切相关,三者可作为评价 DLBCL 预后的参考指标。

关键词:弥漫大 B 细胞淋巴瘤; Bcl-2; 核因子 κ B; C-myc

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.10.030

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)10-1370-03

Expression and clinical significance of Bcl-2, NF- κ B and C-myc B protein in diffuse large B cell lymphoma tissue

LI Qingping, LIU Jie, LI Yan, XIAO Bo[△]

(Department of Pathology, Jingmen Municipal Second People's Hospital, Jingmen, Hubei 448000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and clinical significance of Bcl-2, NF- κ B and C-myc in diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) tissue. **Methods** Sixty-seven cases of DLBCL tissue were selected as the observation group, and contemporaneous 21 cases of lymphoid reactive hyperplasia (RH) tissues as the control group. The levels of Bcl-2, NF- κ B, C-myc protein expression in tissues were detected by the S-P method. Then their relationship with the clinicopathological features of DLBCL was analyzed. **Results** The positive expression rates of Bcl-2, NF- κ B and C-myc protein in DLBCL tissues were 58.21%, 62.69% and 77.61% respectively, which in RH tissue were 0.00%, 19.05% and 23.81% respectively, the difference was statistically significant ($P < 0.05$); the Bcl-2 protein expression had no significant correlation with the age, gender, disease location, serum LDH level and extranodal sites in DLBCL patients ($P > 0.05$), was significantly correlated with clinical stage and IPI grade ($P < 0.05$); the NF- κ B protein expression had no significant correlation with age and gender in the patients with DLBCL ($P > 0.05$), was significantly correlated with clinical stage, location, IPI grade and serum LDH level ($P < 0.05$); the C-myc protein expression had no significant correlation with age, gender, disease location, serum LDH level and extranodal sites ($P > 0.05$), was significantly correlated with clinical stage and IPI grade ($P < 0.05$). Bcl-2 had stronger positive correlation with NF- κ B expression in DLBCL tissues ($r = 0.671, P < 0.05$), and had no correlation with C-myc in DLBCL tissue ($P > 0.05$), NF- κ B and C-myc expression in DLBCL tissues showed weak positive correlation ($r = 0.293, P < 0.05$). **Conclusion** Bcl-2, NF- κ B, C-myc expressions are closely correlated with the clinical stage and IPI grade of DLBCL and can serve as the reference indicators for evaluating DLBCL prognosis.

Key words: diffuse large B cell lymphoma; B-cell lymphoma-2; nuclear factor κ B; C-myc

弥漫大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)是临床上最为常见的一种非霍奇金淋巴瘤恶性肿瘤,因其在组织形态、临床表现、治疗反应及预后等方面存在高度异质性,成为了国内外淋巴瘤研究的重要热点^[1-2]。目前,DLBCL 已成为发病率逐年增长速度最为迅速的恶性肿瘤之一^[3]。临床治疗 DLBCL 取得了一定疗效,但仍有一部分患者出现治疗失败或者复发而导致疾病进展^[4]。因此,探索新的治疗靶点对于阐明 DLBCL 发病机制、临床治疗及预后具有十分重要的临床价值。本研究旨在探讨 DLBCL 组织中 Bcl-2、核因子 κ B (NF- κ B)、C-myc 蛋白表达及其临床意义,试图为 DLBCL 治疗及预后提供新的生物学指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 3 月至 2016 年 3 月本院收治的 67 例 DLBCL 患者的淋巴瘤组织作为本研究观察组标本,所有患者均符合 2008 年 WHO 淋巴瘤造血组织肿瘤分类中的 DLBCL 诊断标准^[5],所有患者临床资料齐全,且术前均未接受任何化疗及激素治疗,未合并其他恶性肿瘤性疾病,其中男 42 例,女 25 例,年龄 19~76 岁,平均(60.56 $\pm$ 4.37)岁,Ann Arbor 临床分期 I~II 期 30 例,III~IV 期 37 例,国际预后指数(IP)评分 0~2 分 43 例,3~4 分 24 例。选取同期 21 例淋巴结反应性增生(RH)患者的淋巴结组织作为对照组标本,其中

男 11 例,女 10 例,年龄 20~73 岁,平均(61.24±4.58)岁。2 组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经本院伦理委员会批准,且标本采集符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》。

1.2 主要试剂 免疫组织化学(S-P)试剂盒、DAB 显色试剂盒、鼠抗人 Bcl-2 单克隆抗体、鼠抗人 NF- κ B 单克隆抗体(1:500 稀释)、鼠抗人 C-myc 单克隆抗体(1:100 稀释),均购自北京中杉金桥技术公司;PBS 缓冲液。

1.3 方法 标本离体后立即进行液氮速冻,于-80℃冰箱保存备用。所取标本经 10%甲醛固定,石蜡包埋,制作厚度为 4 μ m 的石蜡切片;采用 S-P 方法,二氨基联苯胺(DAB)显色,利用 S-P 试剂盒检测石蜡切片中 Bcl-2、NF- κ B、C-myc 表达,用已知阳性切片作为阳性对照,PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照,具体操作严格按照试剂盒使用说明进行。

1.4 结果判定 以细胞膜/细胞质/细胞核染色呈现棕黄色为阳性表达。高倍镜下观察,以细胞染色强度与阳性细胞所占百分比评分乘积进行统计学分析。以 0~1 分为阴性,标记为“-”; ≥ 2 分为阳性,标记为“+”。染色强度为无色、浅黄色、金黄色、棕黄色,阳性细胞比例分别为 0、<50%、50%~75%、>75%,免疫组化半定量评分分别为 0、1、2、3 分。

1.4 统计学处理 利用统计学软件 SPSS19.0 进行数据统计学分析,计数资料比较采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,相关

性分析采用 Spearman 秩相关检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组之间 Bcl-2、NF- κ B、C-myc 蛋白表达水平比较 Bcl-2 蛋白在观察组中阳性表达率为 58.21%(39/67),明显高于对照组中阳性表达率 0.00%($\chi^2=21.953,P=0.000$)。NF- κ B 蛋白在观察组中阳性表达率为 62.03%(42/67),明显高于对照组中阳性表达率 19.05%(4/21),差异有统计学意义($\chi^2=12.204,P=0.000$)。C-myc 蛋白在 DLBCL 观察组中阳性表达率为 77.61%(52/67),明显高于对照组中的阳性表达率 23.81%(5/21),差异有统计学意义($\chi^2=20.284,P=0.000$)。

2.2 Bcl-2、NF- κ B、C-myc 蛋白表达与 DLBCL 临床病理特征之间的关系 不同年龄、性别、发病部位、血清乳酸脱氢酶(LDH)水平的 DLBCL 患者之间,Bcl-2 蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),但不同临床分期、IPI 分级的 DLBCL 患者之间,Bcl-2 蛋白表达水平差异显著($P<0.05$)。不同年龄、性别 DLBCL 患者间 NF- κ B 蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),不同发病部位、临床分期、IPI 分级及血清 LDH 水平患者间 NF- κ B 蛋白表达水平差异显著($P<0.05$)。C-myc 蛋白表达水平与 DLBCL 患者年龄、性别、发病部位、血清 LDH 水平无显著相关性($P>0.05$),与患者临床分期、IPI 分级显著相关($P<0.05$)。具体见表 1。

表 1 Bcl-2、NF-κB、C-myc 蛋白表达水平与 DLBCL 临床病理特征之间的关系(<i>n</i>)													
临床参数	<i>n</i>	Bcl-2				NF-κB				C-myc			
		—	+	χ^2	<i>P</i>	—	+	χ^2	<i>P</i>	—	+	χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)													
≥60	39	19	20	1.841	0.175	14	25	0.080	0.777	11	28	1.817	0.178
<60	28	9	19			11	17			4	24		
性别													
男	42	16	26	0.632	0.427	16	26	0.029	0.864	9	33	0.060	0.807
女	25	12	13			9	16			6	19		
部位													
结内	27	9	18	1.330	0.249	5	22	6.830	0.009	8	19	1.365	0.243
结外	40	19	21			20	20			7	33		
临床分期													
I ~ II 期	30	17	13	4.942	0.026	17	13	8.699	0.003	14	16	18.429	0.000
III ~ IV 期	37	11	26			8	29			1	36		
IPI													
0~2	43	23	20	5.092	0.024	22	21	9.844	0.002	13	30	4.251	0.039
3~4	24	6	18			3	21			2	22		
血清 LDH													
正常	32	17	15	0.706	0.401	18	14	9.391	0.002	8	24	0.241	0.624
升高	35	15	20			7	28			7	28		

2.3 DLBCL 组织中 Bcl-2、NF- κ B、C-myc 表达相关性分析 采用 χ^2 检验与 Spearman 法进行相关性分析,Bcl-2 与 NF- κ B 在 DLBCL 组织中表达呈较强正相关($r=0.671,P<0.05$),Bcl-2 与 C-myc 在 DLBCL 组织中表达无相关性($P>0.05$),NF- κ B 与 C-myc 在 DLBCL 组织中表达呈较弱正相关($r=0.293,P<0.05$)。

3 讨 论

近年来,DLBCL 发病率及病死率在全球范围内呈现显著增长趋势,严重危害了全球人民的身体健康及生命安全^[6]。近些年来,国内外利用免疫治疗联合标准化疗治疗 DLBCL 取得

了一定疗效,但仍然有一部分 DLBCL 患者病情进展较快,早期常复发,大多数死于 1 年之内^[7]。因此,探究 DLBCL 发病机制及寻找新的治疗靶点是目前临床治疗 DLBCL 亟待解决的关键性问题。

Bcl-2 是位于人类基因染色体 18q21 的细胞凋亡抑制基因,是一种原癌基因^[8]。Bcl-2 可通过抑制细胞凋亡导致肿瘤细胞凋亡过程出现异常,同时还可介导细胞对于传统抗肿瘤性药物耐药,在淋巴瘤疾病发生及肿瘤细胞对于放化疗敏感性上发挥重要作用。目前,国内外有关 Bcl-2 与 DLBCL 预后之间的关系仍然存在较大争议,一些学者认为 Bcl-2 与 DLBCL 预

后无关,另一些学者认为 Bcl-2 表达与 DLBCL 预后较差密切相关。NF-κB 是一种多功能、多向性核转录因子,可介导多条细胞分化及免疫反应相关的信号传导通路^[9]。研究表明,肺癌、乳腺癌及淋巴瘤等多种肿瘤与 NF-κB 活化密切相关^[10]。Bcl-2 是位于 NF-κB 下游的关键靶基因之一,当 NF-κB 活化后可调控 Bcl-2 基因转录,使得 Bcl-2 蛋白上调表达^[11]。C-myc 是位于人类染色体 8q24 的一个原癌基因^[12]。C-myc 基因及 C-myc 蛋白具有调节 G1 细胞分布、细胞增殖分化及促进 DNA 复制等功能。过表达 C-myc 可改变细胞基因调控,促进细胞转化为恶性表型,当机体其他抑癌基因失活或者癌基因活化时,加速启动肿瘤发生。研究表明,在白血病、恶性淋巴瘤及起源于各种上皮细胞的恶性肿瘤中均存在 C-myc 基因及蛋白过表达。

本研究结果表明,Bcl-2 蛋白在 DLBCL 患者组织中阳性表达率为 58.21%,而在 RH 患者组织中不表达;NF-κB 蛋白在 DLBCL 患者组织中阳性表达率为 62.69%,明显高于 RH 患者组织中阳性表达率 19.05%;C-myc 蛋白在 DLBCL 患者组织中阳性表达率为 77.61%,明显高于 RH 患者组织中阳性表达率 23.81%,提示 Bcl-2、NF-κB、C-myc 在 DLBCL 组织中呈现高表达,参与 DLBCL 发生;DLBCL 组织中 Bcl-2 蛋白及 C-myc 蛋白表达与患者年龄、性别、发病部位、血清 LDH 水平及结外部位等无显著相关性,与患者临床分期、IPI 分级显著相关,说明 Bcl-2、C-myc 蛋白过表达在 DLBCL 发病中起重要作用,且随着 DLBCL 临床分期及预后评分升高 Bcl-2、C-myc 蛋白表达水平呈明显上升趋势,推测 Bcl-2、C-myc 可作为评估 DLBCL 病情及预后的参考指标,与已报道研究结果相一致^[13]。DLBCL 患者组织中 NF-κB 蛋白表达与患者年龄、性别无显著相关性,与患者发病部位、临床分期、IPI 分级及血清 LDH 水平显著相关,提示 NF-κB 在 DLBCL 疾病发生、发展中起重要作用,NF-κB 高表达加快了 DLBCL 疾病进展,对患者预后存在一定影响;相关性分析结果可见,Bcl-2 与 NF-κB 在 DLBCL 患者组织中表达呈较强正相关,推测是由于 Bcl-2 是 NF-κB 下游靶基因,Bcl-2 高表达可能与 NF-κB 信号通路激活有关,其具体作用机制,有待进一步深入研究,Bcl-2 与 C-myc 在 DLBCL 组织中表达无相关性,NF-κB 与 C-myc 在 DLBCL 组织中表达呈较弱正相关。

综上所述,Bcl-2、NF-κB、C-myc 表达与 DLBCL 临床分期、

IPI 分级密切相关,三者可作为评价 DLBCL 预后的参考指标,为 DLBCL 诊断治疗及预后评估提供新的思路及途径。

参考文献

[1] 郑方,冷青,季征,等.弥漫大 B 细胞淋巴瘤的临床特点分析[J].中国医学工程,2013,21(10):43.

[2] Hunt KE,Reichard KK. Diffuse large B-cell lymphoma [J]. Arch Pathol Lab Med,2008,132(1):118-124.

[3] 佟丹江.弥漫大 B 细胞淋巴瘤的流行病学分析[J].中国现代药物应用,2016,10(8):46-47.

[4] 龚军,彭春雷,姚卫东,等.弥漫大 B 细胞淋巴瘤免疫亚型与临床特征及疗效的关系[J].中国肿瘤临床与康复,2014,21(8):925-927.

[5] 佚名. WHO 造血淋巴组织肿瘤分类更新[J].河南医学研究,2008,17(3):209.

[6] 张欣,王洁,艾丽梅.783 例淋巴瘤患者流行病学分析[J].现代预防医学,2013,40(20):3908-3912.

[7] 李明,王子安.复发/难治性弥漫大 B 细胞淋巴瘤治疗的新进展[J].中华全科医学,2015,13(6):1000-1003.

[8] 付倩梅,李晓明. Bcl-2 基因的研究进展[J].西南军医,2014,16(1):76-79.

[9] 孙静静,邵军军,常惠芸. NF-κB 免疫生物学作用的研究进展[J].生物技术通报,2011,27(11):63-69.

[10] 向阳芳,石敏,徐智. NF-κB 的负性调控机制在肿瘤发展与治疗的研究进展[J].现代生物医学进展,2014,14(16):3153-3157.

[11] Jones J,Chand H,Awji E,et al. A novel role of Bcl-2 family proteins in regulating NF-κb-mediated inflammation[C]. Denver,USA:ATS International Conference,2015.

[12] 黄河,郭文坚,姚荣欣.原癌基因 C-MYC 在多发性骨髓瘤中的研究进展[J].中国实验血液学杂志,2016,24(4):1248-1251.

[13] 杨帆,钱中贤,赵亦菲,等. MYC/Bcl-2 共表达在弥漫大 B 细胞淋巴瘤预后判断中的意义研究[J].中华疾病控制杂志,2016,20(7):717-720.

(收稿日期:2016-12-25 修回日期:2017-02-18)

(上接第 1369 页)

版,2014,7(4):58-60.

[5] 朱宏斌,张凤仙.盐酸丙卡特罗在儿童慢性咳嗽诊断治疗中的价值[J].儿科药理学杂志,2010,16(1):16-18.

[6] 中华医学会儿科学分会呼吸学组慢性咳嗽协作组.中国儿童慢性咳嗽诊断与治疗指南(2013 年修订)[J].中华儿科杂志,2014,52(3):184-188.

[7] 陈建萍,张乾,章学英,等.123 例慢性咳嗽患儿病因与肺炎支原体抗体检测分析[J].实用临床医药杂志,2015,19(17):166-167.

[8] 陈德晖.5 岁以下儿童慢性咳嗽诊断思路[J].中国实用儿科杂志,2013,28(11):816-819.

[9] 王宏.碳 14 尿素呼气试验检测 HP 感染对上消化道疾病的诊治意义[J].航空航天医学杂志,2010,21(1):86.

[10] 耿凌云,陈慧中,刘传合,等.北京地区儿童慢性咳嗽病因构成比研究[J].中华实用儿科临床杂志,2015,30(13):

1023-1025.

[11] 向谦,王永占,岳光平,等.碳 14 呼气实验在消化性溃疡诊疗中的卫生经济学价值[J].四川医学,2013,34(1):44-46.

[12] 陈有良.儿童肺炎支原体感染的两种实验方法检测的比较[J].2015,36(9):1311-1312.

[13] 彭庆娟,童昌珍.成人非口源性口臭与幽门螺旋杆菌的相关性研究[J].中国中西医结合消化杂志,2014,22(12):758-759.

[14] 何莉,叶启翔,程述梅,等.儿童慢性咳嗽 90 例临床分析[J].中国妇幼保健研究,2010,21(1):47-49.

[15] 李宗慧,罗晓兰,李金津,等.一体化服务对儿童慢性咳嗽病因诊断及治疗的影响[J].中国妇幼保健研究,2015,26(4):804-806.

(收稿日期:2016-12-21 修回日期:2017-02-25)